SERIE : E

N° D'ORDRE : 251

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITE DE CLERMONT-FERRAND II

(U. E. R. des Sciences Exactes et Naturelles à dominante Recherche)

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

Jacques BOHATIER

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA MORPHOGENESE DE REGENERATION CHEZ LES PROTOZOAIRES CILIES DES GENRES DILEPTUS ET CONDYLOSTOMA.

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 14 JANVIER 1978 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. H. LUTZ	....	Président
P. de PUYTORAC	....	Examinateurs
J. GRAIN	....	Examinateurs
G. de HALLER	....	Examinateurs
Mme A.M. DUPRAT	....	
MM. E.D. HANSON	....	Rapporteurs
J. FRANKEL	....	Rapporteurs

RESUME

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

RESUME

L'étude comparée de la morphogenèse de régénération chez des Protozoaires Ciliés appartenant aux genres *Dileptus* et *Condylostoma*, s'appuie sur des données morphologiques, cytologiques et physiologiques.

1) - Dans un premier temps, l'étude détaillée à l'échelle structurale et ultrastructurale des Ciliés *Dileptus anser*, *D. cygnus* et *Condylostoma magnum* (souches S_1 et S_2), conduit à souligner les particularités cytologiques des deux genres, dont les positions systématiques sont très éloignées à l'intérieur du Phylum des Ciliophora.

Les *Dileptus* (exemple type de Ciliés Kinétofragmophora Gymnostomes Prostomiens) ont une ciliature et une infraciliature periorales nettement différenciées, autour du cytostome, et le long de la face ventrale du proboscis. L'infraciliature est constituée par la juxtaposition plus ou moins régulière de paires cinétosomiennes (1 cinétosome cilié associé à un cinétosome non cilié). L'armature pharyngienne se compose de némadesmes (2 couronnes) et de rideaux microtubulaires (fibres transverses). Des organites de capture de proies (Toxicystes) occupent la partie ventrale droite du proboscis.

Les *Condylostoma magnum* étudiés sont des Ciliés Polyhymenophora Hétérotriches, libres (Bursarioïdea). Leur ciliature buccale est composée d'une frange adorale de "paramembranelles" à gauche, et de "rangées ciliaires" réalisant une "polystichomonade" à droite. Les "pseudo-cirres" apicaux, qui surplombent la cavité péristomienne au niveau antérieur droit ne peuvent en aucun cas être assimilés à des "membranelles" isolées. L'armature pharyngienne est constituée de némadesmes adoraux, paroraux, et de rideaux microtubulaires paroraux.

2) - La stomatogenèse de régénération (comme celle de division) est de type télocinétienne chez les *Dileptus*. Le primordium oral se forme en position apicale, et la ciliature amputée, ainsi que l'armature pharyngienne, sont très rapidement régénérées (moins de 3 h).

Chez *Condylostoma*, la stomatogenèse de régénération (comme celle de division) est paracinétienne. Le primordium se forme en position ventrale

aux dépens de plusieurs cinéties d'un territoire cortical strictement localisé (la zone ventrale gauche en "V"). La multiplication cinétosomienne ne se déclenche qu'après un temps de latence relativement long (3 h environ) et aboutit à la réalisation d'un champ cinétosomien "désordonné" ou "anarchique", qui ultérieurement se scinde en deux champs (1 à droite : paroral ; 1 à gauche : adoral). Ce n'est que secondairement que les organelles buccaux adoraux, puis paroraux se différencient par alignement des cinétides en rangées transversales (2) à gauche, et longitudinales (3 à N selon les niveaux) à droite. La 3ème rangée cinétosomienne de chaque "paramembranelle" (cinétie C_1) ne se différencie que plus tardivement. Les "pseudo-cirres" apicaux s'isolent à l'extrémité apicale du primordium de droite, et ont donc une origine parorale.

A l'échelle ultrastructurale, l'accent est mis sur la différence qui existe entre la néoformation des cinétosomes à l'intérieur d'une cinétie somatique chez *Dileptus* et chez *Condylostoma*, au moment de l'allongement de la cinétie, et la genèse des nouveaux cinétosomes chez *Condylostoma* au moment de la réalisation du champ "anarchique". Dans le premier cas, les jeunes cinétosomes sont immédiatement orientés, au sein d'un cortex déjà différencié, juste après leur formation ; dans le deuxième cas, leur orientation spécifique est plus tardive, et suit la "détermination" antéro-postérieure progressive du cortex ventral.

3) - Les effets de différents inhibiteurs de synthèse, tels que la Mitomycine C (inhibiteur de la duplication de l'ADN), l'Actinomycine D et l'α-amanitine (inhibiteurs de la synthèse d'ARN), la Cycloheximide (inhibiteur de la synthèse des protéines), et la Colchicine (inhibiteur de la polymérisation des microtubules), sont étudiés à la fois sur la régénération (et la division) de *D. anser* et *D. cygnus*, et sur la régénération de *C. magnum*. Leur utilisation, couplée ou non avec des précurseurs radioactifs (Uridine ^{3}H, Leucine ^{3}H) conduit aux conclusions suivantes :

a) - Chez *Dileptus*, la morphogenèse de régénération est indépendante d'une synthèse immédiate d'ADN et d'ARN (insensibilité de ce type de stomatogenèse à l'action de la Mitomycine C et de l'Actinomycine D). Par contre, il est démontré que la morphogenèse de division, qui est inhibée par l'Actinomycine D, nécessite une synthèse immédiate d'ARN.

Les différences concernant les deux types de stomatogenèse ne peuvent pas être imputées à des variations concernant la perméabilité cellulaire à

l'antibiotique (Actinomycine D), comme le démontrent des observations cytologiques (effets identiques provoqués par l'Actinomycine D au niveau des ultrastructures macronucléaires, et plus particulièrement nucléolaires (dans tous les cas étudiés: cellules interphasiques, cellules en régénération, cellules en division), et des expériences d'autoradiographies ultrastructurales (pénétration de l'Actinomycine D ^{3}H et incorporation d'Uridine ^{3}H).

La régénération ne nécessite pas de synthèses protéiques servant de matériau pour la fabrication de nouvelles structures orales, mais elle nécessite la synthèse obligatoire de protéines contrôlant :
a) - la stabilisation des structures orales régénérées au seul niveau du proboscis ;
b) - le fonctionnement de l'appareil oral régénéré (capture des proies = décharge des toxicystes, et ingestion des proies = endocytose).

b) - Chez *Condylostoma magnum*, la régénération est très certainement indépendante d'une duplication d'ADN (bien que chez certaines souches le macronoyau puisse effectuer un cycle "condensation-élongation-renodulation"). Par contre,des synthèses nécessaires d'ARN contrôlent la stomatogenèse ; ces synthèses sont en rapport avec le codage de protéines spécifiques de différentes catégories, elles-mêmes en relation avec les différentes étapes de la morphogenèse (multiplication cinétosomienne, orientation et stabilisation des structures, creusement de la cavité orale, fonctionnement de l'appareil buccal, cycle macronucléaire).

La notion de deux modèles cellulaires différents (type *Dileptus* et type *Condylostoma*) est une des conclusions majeures des expériences rapportées dans ce mémoire.

Le premier type (*Dileptus*) est caractérisé par l'abondance des réserves cytoplasmiques directement utilisables au moment de la régénération : protéines de type "orales", de "stabilisation", ARN messagers de longue durée .

Le deuxième type (*Condylostoma*) nécessite au moment de la régénération, une programmation immédiate de plusieurs catégories d'ARN qui servent au codage de plusieurs types de protéines ("stabilisation", "membranaires", "répresseurs").

4) - Enfin, un essai d'interprétation concernant la "qualité" des protéines synthétisées pendant la régénération chez *Dileptus* et *Condylostoma* est tenté en s'appuyant sur les données fournies par la littérature concernant d'autres processus morphogénétiques chez les Ciliés (division binaire, remplacement oral, régénération ciliaire somatique ou orale,...).

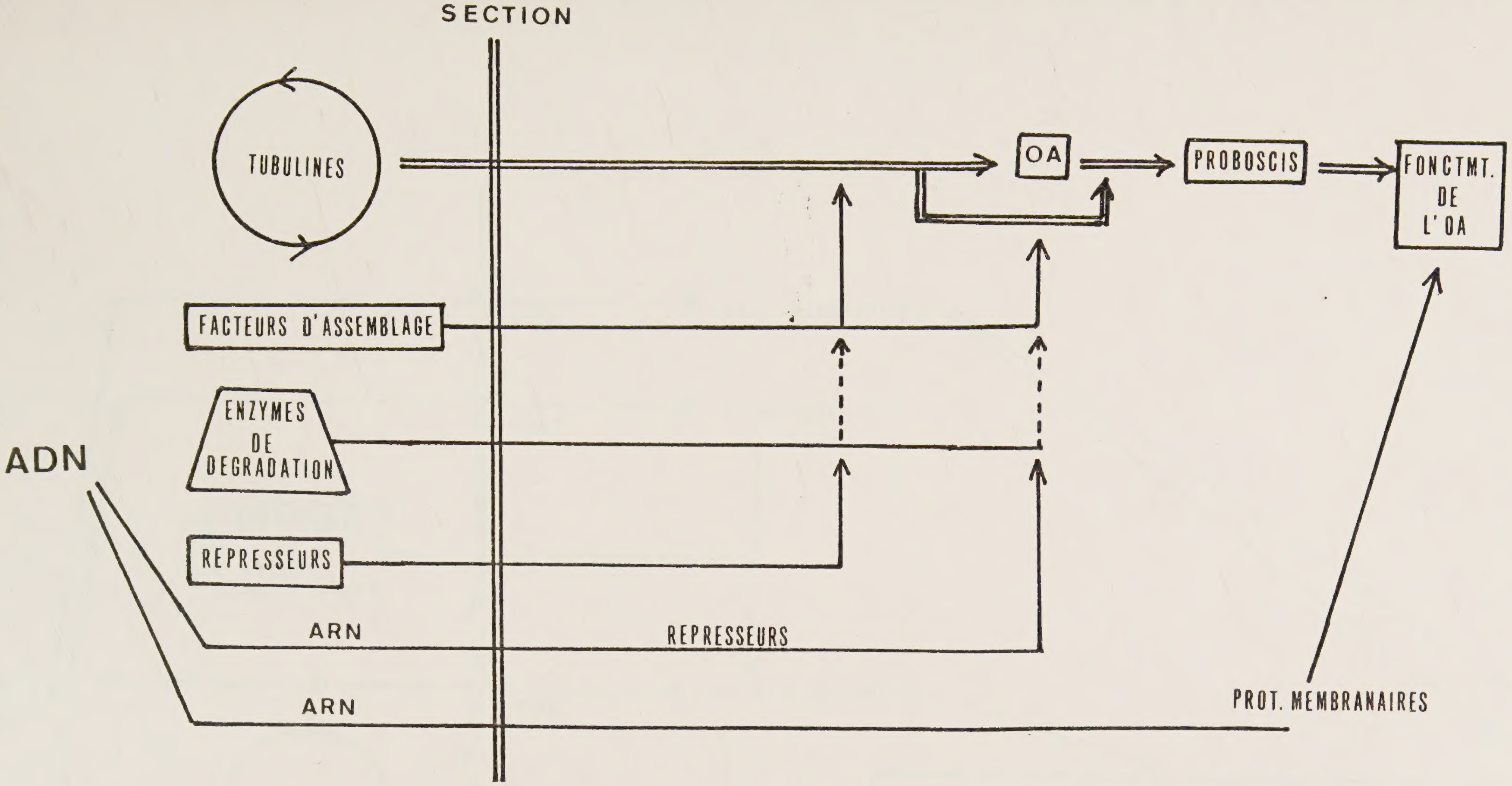
Les idées de WILLIAMS (1975) sur l'assemblage des protéines microtubulaires, et de FRANKEL (1967) sur la dégradation des structures microtubulaires sont discutées.

Chez *Condylostoma*, la régénération nécessiterait la synthèse de protéines intervenant dans "l'assemblage" et la "stabilisation" des structures microtubulaires de plusieurs types : (1) "facteurs d'assemblage" ; (2) "répresseurs" d'un système enzymatique permanent de dégradation intracytoplasmique ; (3) "facteurs de stabilisation cortical".

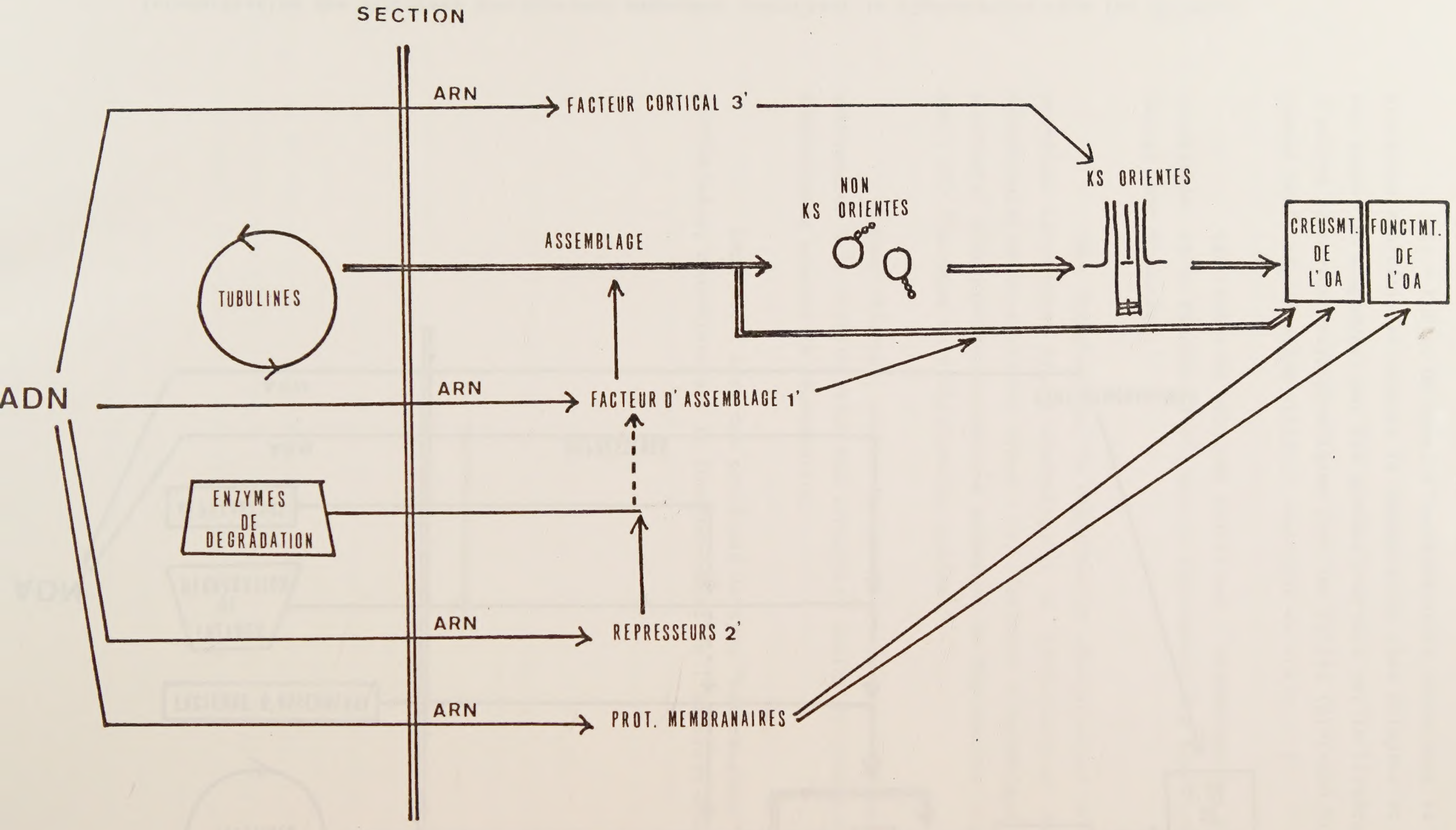
Chez *Dileptus*, seules des protéines de type "répresseurs" (type 2) nécessaires à la stabilisation des structures orales du proboscis seraient synthétisées pendant la régénération.

Dans les 2 cas, des protéines de type "membranaires", nouvellement synthétisées, contrôleraient le fonctionnement de l'appareil buccal régénéré.

ooooooooooooooooooooooooooooooooooooooo



Interprétation des synthèses biochimiques supposées contrôlant la régénération chez les *Dileptus*.



Interprétation des synthèses biochimiques supposées contrôlant la régénération chez *Condylostoma magnum*.